

Pulse-based fluorometer

Publication number: DE3518527
Publication date: 1986-11-27
Inventor: SCHREIBER ULRICH DR (DE); SCHLIWA ULRICH (DE)
Applicant: SCHREIBER ULRICH DR; SCHLIWA ULRICH
Classification:
- International: G01N21/64; G01N21/63; G01N21/84; G01N21/64; G01N21/63; G01N21/84; (IPC1-7): G01N21/64; G01D5/244; G01N33/18
- European: G01N21/64P
Application number: DE19853518527 19850523
Priority number(s): DE19853518527 19850523

Report a data error here

Abstract of DE3518527

The invention relates to a pulse-based fluorometer which is capable with the aid of a selective pulse-amplifying system of detecting rapid variations in the fluorescence yield in the case of irradiation by strong, unfiltered white light. The measurement system comprises a periodically pulsed light source, e.g. a light-emitting diode, for fluorescence excitation, a photodetector, e.g. a photodiode, for detecting the fluorescence pulses and a pulsed-amplifying system which processes the fluorescence pulse signals selectively even against a large background of superimposed signals. The fluorometer is particularly suitable for measuring the light-induced variations in the chlorophyll fluorescence of living plants in the event of exposure to unfiltered strong light, e.g. sunlight.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

DEUTSCHES
PATENTAMT

- (21) Aktenzeichen: P 35 18 527.9
(22) Anmeldetag: 23. 5. 85
(43) Offenlegungstag: 27. 11. 86

Behördeneigentum

DE 35 18527 A1

(71) Anmelder:

Schreiber, Ulrich, Dr., 8702 Waldbrunn, DE; Schliwa,
Ulrich, 8700 Würzburg, DE

(72) Erfinder:

gleich Anmelder

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

(54) Fluorometer auf Impulsbasis

Die Erfindung betrifft ein Fluorometer auf Impulsbasis, welches mit Hilfe eines selektiven Impuls-Verstärkersystems in der Lage ist, schnelle Veränderungen der Fluoreszenzausbeute bei Einstrahlung von starkem ungefiltertem Weißlicht zu erfassen. Das Meßsystem umfaßt eine periodisch gepulste Lichtquelle, z. B. eine lichtemittierende Diode, zur Fluoreszenzanregung, einen Photodetektor, z. B. eine Photodiode, zur Erfassung der Fluoreszenzimpulse und ein Impuls-Verstärkersystem, welches die Fluoreszenzimpuls-Signale selektiv auch gegen einen großen Hintergrund überlagernder Signale verarbeitet. Das Fluorometer ist besonders geeignet zur Messung der lichtinduzierten Veränderungen der Chlorophyllfluoreszenz lebender Pflanzen bei Belichtung mit ungefiltertem Starklicht, z. B. Sonnenlicht.

DE 35 18527 A1

Patentansprüche

(1.) Fluorometer zur Messung lichtinduzierter Veränderungen der Fluoreszenzausbeute bestehend aus einem Meßkopf und einer Steuer- und Regeleinrichtung, wobei der Meßkopf in einem Abschirmgehäuse untergebracht ist, das neben einer LED Lichtquelle einen Photodetektor mit Vorverstärker enthält, gekennzeichnet durch folgende Merkmale:

- a) die LED Lichtquelle (1) wird von einem Impulstreiber (2) getrieben und liefert periodisch rechteckförmige Lichtimpulse (3) im μsec -Bereich;
- b) das LED Impulslicht durchdringt ein optisches Kurzpaßfilter (4) bevor es auf das Untersuchungsobjekt (5) fällt und dort längerwellige Fluoreszenz-Impulse anregt, welche durch ein optisches Langpaßfilter (6) von dem LED Impulslicht getrennt und auf den Photodetektor geleitet werden;
- c) im Vorverstärker (8) werden mittels eines RC-Hochpaß-Filters (R_1 , C_1) die schnellen Impulssignale von langsameren, überlagernden Fremdsignalen getrennt;
- d) in der Steuer- und Regeleinrichtung (STR) liefert ein Taktgenerator (9) Steuerimpulse für den LED Impulstreiber (2) und die zugehörigen Steuerimpulse für einen selektiven Ausschnittsverstärker (11), sowie über eine Synchronisierungseinheit (10) Synchronisierungspulse für die Ansteuerung einer Starklichtquelle (19) und Austastimpulse zum kurzfristigen Kurzschließen des Vorverstärker (8);
- e) im selektiven Ausschnittsverstärker (11) dienen zwei vom Taktgenerator (9) über den Dezimalzähler (12) und die Verzögerungsglieder (V_1 , V_2) erzeugte Schaltimpulse zur Betätigung der Schalter (S_1 , S_2) zum Zwecke der zeitlich selektiven Übernahme des vom Vorverstärker (8) eintreffenden Signals (13) durch zwei Speicherkondensatoren (C_2 , C_3) an den beiden Eingängen eines Instrumenten-

Verstärkers (14), wobei die Schalter jeweils nur für kurze Zeiträume im Maximum des Ladeimpulses (15) und im Minimum des folgenden Entladeimpulses (16) geschlossen sind;

f) die Synchronisierungseinrichtung (10) löst bei Betätigung eines Start-Tasters (17) Triggerimpulse für die Betätigung eines Ein/Aus Schalters (18 a,b) einer Starklichtquelle (19) aus, wobei die vom Taktgenerator (9) erzeugten Synchronimpulse mittels des Dezimalzählers (12) zeitlich verschoben sind, sodaß sie jeweils in die Mitte zwischen zwei LED Meßlicht-Impulse (3) fallen, und wobei eine Logikschaltung (L1) dafür sorgt, daß die Synchronimpulse nur dann einen Einschalt-Triggerimpuls auslösen, wenn der Start-Taster (17) betätigt wird, und wobei eine zweite Logikschaltung (L2) in Verbindung mit einem digital einstellbaren Verzögerungsglied (20) einen Synchronimpuls zur Auslösung des Ausschalt-Triggerimpulses selektioniert.

2. Fluorometer nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
daß der Photodetektor eine PIN-Photodiode (7) ist, mit ausreichend schneller Ansprechzeit zur Erfassung von Fluoreszenzimpulsen im μ sec-Bereich und mit hoher Linearität des Ausgangsstroms über einen weiten Lichtintensitätsbereich.

3. Fluorometer nach Ansprüchen 1 und 2,
dadurch gekennzeichnet,
daß bei Einsatz der Starklichtquelle (19) der Taktgenerator (9) mittels eines von der Synchronisierungseinheit (10) angesteuerten Umschalters (21) von einer niedrigen auf eine hohe Frequenz und umgekehrt geschaltet wird.

4. Fluorometer nach Ansprüchen 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,
daß die externe Starklichtquelle (19) eine Blitzentladungslampe ist, und daß der bei Betätigung des Start-Tasters (17) ausgelöste

ORIGINAL INSPECTED

Triggerimpuls über einen Impulsgenerator (22) einen Impuls definierter Dauer zur Betätigung eines Schalters (S3) für die Kurzschließung des Photodiodenvorverstärkers (8) erzeugt.

5. Fluorometer nach Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Steuer- und Regeleinrichtung (STR) mit einer wahlweise zuschaltbaren Zusatzeinrichtung (23) zur automatischen Nullwertkompensation des Meßsignals ergänzt ist, bestehend aus einem vom Taktgenerator (9) bei Betätigung eines Tasters (24) angesteuerten Binärzähler (25) mit nachgeschalteter Widerstandskette (26), welche Ausgangsspannungen zur Kompensation des vorliegenden Meßsignals erzeugt, die zunächst in einem Komparator (27) mit dem Meßsignal verglichen werden, um den Binärzähler (25) zu einer Aufwärts- oder Abwärtszählung zu veranlassen, und daß dann in einem Differenzverstärker (28) die Differenzspannung zwischen Meßsignal und Kompensationsspannung gebildet wird, wobei nach ausreichender Zähldauer die Differenzspannung statistisch um den Nullwert schwankt und wobei nach Abschalten der Taktimpulse der jeweils vorliegende Kompensationswert erhalten bleibt.

6. Fluorometer nach Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß im Meßkopf (M) die LED (1) und die Photodiode (7) mit den entsprechenden Filtern (4, 6) nebeneinander in parallelen Achsen in einem Abschirmgehäuse (29) angeordnet sind, und daß die LED (1) und die Photodiode (7) über getrennte Lichtleiterfaserbündel (30, 31) an einem gemeinsamen Austrittsende (32) zusammengeführt und gemischt sind, und daß das Austrittsende der zusammengefaßten Lichtleiterbündel (32) in geringem Abstand vom Untersuchungsobjekt (5) gehalten ist.

7. Fluorometer nach Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die LED Impulslichtquelle (1) durch das optische Kurzpaßfilter

(4) und durch zentrale Öffnungen (33, 34) einer darüberliegenden Photodiode (35) und eines optischen Langpaßfilters (36) auf ein über der Öffnung (37) des Abschirmgehäuses (29) befindliches Untersuchungsobjekt (5) scheint, und daß die dort angeregte Fluoreszenz durch das optische Langpaßfilter (36) vom kürzerwelligen LED Licht getrennt wird und dann auf die Photodiode (35) trifft.

8. Fluorometer nach Ansprüchen 1 bis 5 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß die LED (1) zusätzlich zu den periodischen Meßlichtpulsen auch kontinuierliches Licht höherer Intensität liefert, wobei die Ein/Aus Schaltung des kontinuierlichen Lichtanteils höherer Intensität durch die Synchronisierungseinrichtung (10) gesteuert ist.

9. Fluorometer nach Ansprüchen 1 bis 5 und 7 - 8, dadurch gekennzeichnet, daß die LED (1) und die Photodiode (35) über das eine Ende eines gemeinsamen Lichtleiterfaserbündels (38) mit dem Untersuchungsobjekt (5) verbunden sind, und daß das andere Ende des Bündels unbeabstandet auf das Untersuchungsobjekt angedrückt ist, sodaß sowohl Anregungslicht als auch Starklicht von der LED (1) über den Lichtleiter (38) auf ein vom Meßkopf entfernt befindliches Untersuchungsobjekt (5) strahlt und die dort angeregte Fluoreszenz über dieselben Fasern zurück in den Meßkopf geleitet wird.

10. Fluorometer nach Ansprüchen 1 bis 5 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß das gefilterte Meßpulslicht der LED (1) nach Passieren der zentralen Öffnungen (33, 34) in der Photodiode (35) und dem optischen Langpaßfilter (36) durch eine zweite LED (39) mit transparentem Kunstharzkörper hindurch die Fluoreszenz des direkt darüberliegenden Untersuchungsobjekts (5) anregt, und daß die transparente LED (39) das Untersuchungsobjekt (5) aus nächster Nähe mit ungefiltertem Starklicht bestrahlt.

ORIGINAL INSPECTED

Die Erfindung bezieht sich auf ein Fluorometer zur Messung lichtinduzierter Veränderungen der Fluoreszenzausbeute gemäß dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1.

Eine derartige Einrichtung ist aus der US Patentschrift 4084905 bekannt. Bei dieser Einrichtung dient dasselbe, kontinuierliche Starklicht, welches die Chlorophyllfluoreszenz pflanzlicher Untersuchungsobjekte verändert, gleichzeitig als Meßlicht zur Anregung der Fluoreszenz. Dabei kann das Detektorsystem nicht zwischen der durch das Meßlicht angeregten Fluoreszenz einerseits und gestreutem Starklicht bzw. der von externem Starklicht angeregten Fluoreszenz andererseits unterscheiden, wenn diese als längerwellige Strahlung das optische Langpaßfilter durchdringen. Damit ist diese Einrichtung nicht dazu geeignet, externes, ungefiltertes Starklicht zur Belichtung des pflanzlichen Untersuchungsobjektes einzusetzen. Ein weiterer Nachteil dieses bekannten Fluorometers besteht darin, daß aufgrund der gegebenen Meßkopfgeometrie die Verwendung eines optischen Kurzpaßfilters zwischen der internen LED Lichtquelle und dem Untersuchungsobjekt verhindert ist, sodaß in der Praxis ein erheblicher Teil des Meßsignals auf den längerwelligen Anteil des Meßlichtes zurückzuführen ist, welches vom Untersuchungsobjekt über den transparenten LED Kunstharzkörper und das optische Langpaßfilter in den Photodetektor reflektiert wird.

Das in der Patentschrift DE-PE 2914147 beschriebene Impulsfluorometer arbeitet mit starkem Impulslicht von einer Blitzentladungslampe, welches bei lichtempfindlichen Untersuchungsobjekten zu deren Veränderung während des Meßvorgangs führt. Diese Veränderungen treten in noch verstärktem Maße auf, wenn die Impulsblitz-Frequenz hoch ist. Damit ist die bekannte Einrichtung nicht in der Lage, zeitliche Veränderungen in der Fluoreszenzausbeute lichtempfindlicher Untersuchungsobjekte messend zu verfolgen. Weiterhin ist diese Einrichtung nicht geeignet, die Impulssignale von überlagernden Fremdsignalen zu trennen, wenn die Intensität der Fremdlichteinstrahlung im Größenbereich der Impulsblitzintensität liegt und wenn

schnelle Änderungen in der Intensität der Fremdbelichtung auftreten.

Bei der Beobachtung bestimmter Untersuchungsobjekte ist es jedoch erforderlich, Meßlicht sehr geringer Intensität bei gleichzeitiger Überlagerung von sehr starker, in der Intensität schnell veränderlicher Fremdeinstrahlung anzuwenden. Ein Beispiel aus der Photobiologie ist die Beobachtung lichtinduzierter Chlorophyllfluoreszenz-Veränderungen (Kautsky-Effekt), wobei Verhältnisse von Meßlicht/Starklicht von $1/10^4$ bis $1/10^7$ gefordert sind.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Fluorometer zu schaffen, welches ein genügend schwaches Meßlicht verwendet, das selbst sehr lichtempfindliche Untersuchungsobjekte nicht verändert und das trotzdem in der Lage ist, selektiv zwischen der schwachen, vom Meßlicht angeregten Fluoreszenz und wesentlich stärkerem Störlicht zu unterscheiden.

Bei Anwendung extrem kurzer Lichtimpulse, die periodisch die Fluoreszenz anregen, kann die Impulsintensität relativ hoch sein, ohne daß das Untersuchungsobjekt im zeitlichen Mittel einer starken Lichteinwirkung ausgesetzt ist, sofern der Abstand zwischen zwei Meßimpulsen relativ zur Impulsdauer groß ist. Weiterhin lassen sich kurze Impulssignale vorteilhaft durch selektive Verstärkungssysteme von überlagernden Fremdsignalen trennen.

Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen geschildert.

Die Verwendung einer PIN-Photodiode als Photodetektor gemäß Anspruch 2 ist vorteilhaft zur Anwendung bei hohen Impulsfrequenzen und bei hohen Starklichtintensitäten. Die Umschaltung von niedrigen zu hohen Impulsfrequenzen gemäß Anspruch 3 bewirkt die Erhöhung des Signal/Rauschverhältnisses. Das Kurzschließen des Photodiodenvorverstärkers gemäß Anspruch 4 ist erforderlich, um bei Einstrahlung sehr starker, kurzer Blitzbelichtung eine Übersättigung

ORIGINAL INSPECTED

des Verstärkersystems zu verhindern. Die automatische Nullwertkompensation des Meßsignals gemäß Anspruch 5 dient der Unterdrückung des nichtvariablen vom variablen Teil des Fluoreszenzlichtes.

Gemäß Anspruch 6 ein zweiarmiges Lichtfaserbündel zu verwenden bringt an Vorteilen, daß die Hauptelemente des Meßkopfes flexibel und beabstandet vom Untersuchungsobjekt angeordnet werden können, bei hoher Ausnutzung des gegebenen Meßlichtes und der entstehenden Fluoreszenz.

Die zentralen Öffnungen gemäß Anspruch 7 ermöglichen eine besonders kompakte Anordnung der Einzelteile und eine damit verbundene hohe Effizienz der Lichtsendung und der Fluoreszenzsammlung.

Die Verwendung einer LED gemäß Anspruch 8 mit höherer Lichtintensität macht eine zusätzliche Starklichtquelle entbehrlich. Von Vorteil ist es, daß diese Lichtquelle trägheitslos und synchron geschaltet werden kann.

Gemäß Anspruch 9 ein einarmiges Lichtfaserbündel zu verwenden bringt den Vorteil, daß dieses unbeabstandet an das Untersuchungsobjekt herangedrückt werden kann und daß damit die gesamte Fluoreszenzstrahlung ohne Streuverlust in den Meßkopf geführt werden kann.

Durch die Anordnung der Starklichtquelle gemäß Anspruch 10 unmittelbar unter dem Untersuchungsobjekt und ohne Zwischenschaltung eines optischen Filters ergibt sich eine besonders intensive Starklichtwirkung.

Ein bevorzugtes Anwendungsfeld der Erfindung bezieht sich auf die Messung lichtinduzierter Veränderungen der Chlorophyllfluoreszenz (Kautsky-Effekt) an lebenden Pflanzen. Diese Veränderungen erlauben einen Einblick in das Photosyntheseverhalten der lebenden Pflanzen und damit eine Diagnose des pflanzlichen Zustands. Jede Schädigung der Pflanze drückt sich in einer charakteristischen Veränderung der Fluoreszenz-Induktionskurve aus.

Nachfolgend wird anhand der Zeichnungen eine Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Fluorometers auf Impulsbasis beschrieben. In den Zeichnungen zeigt

- Figur 1 ein Funktions-Blockschema des Fluorometers,
- Figur 2 a,b ein Prinzipschaltbild des Fluorometers,
- Figur 3 ein Zeitdiagramm zur Erläuterung der Schalterstellungen im selektiven Ausschnittsverstärker,
- Figur 4 ein Prinzipschaltbild der automatischen Nullwertkompensation,
- Figur 5 eine schematische Darstellung einer Meßkopfausführung mit Meßlichtführung durch zentrale Öffnungen in der Photodiode und im Langpaßfilter,
- Figur 7 eine schematische Darstellung einer Meßkopfausführung mit einarmiger Fiberoptik,
- Figur 8 eine schematische Darstellung einer Meßkopfausführung mit zwei hintereinander angeordneten LEDs mit Meßlicht- und Starklichtfunktionen und
- Figur 9 Meßkurve der zeitabhängigen Veränderung der Chlorophyllfluoreszenz - Ausbeute beim Dunkel/Licht Übergang.

Das in Fig. 1 in einem Funktions-Blockschema dargestellte Fluorometer besteht aus einem Meßkopf M, einer Steuer- und Regeleinrichtung STR und wahlweise hinzuschaltbaren Einrichtungen für automatische Nullwertkompensation 23 und für Starklicht-Belichtung 18a, 18b, 19. Eine spezifische Messung der Impulsfluoreszenz ist durch die Kombination optischer Filter 4, 6 und selektiver Verstärkerelemente 8, 11 erreicht. Die LED Lichtquelle 1 wird durch den Impulstreiber 2 über den Dezimalzähler 12 mit 1/10 der Frequenz des Taktgenerators 9 betrieben und bestrahlt das Untersuchungsobjekt 5 durch ein optisches Kurzpaßfilter 4. Das kurzwellige Anregungslicht regt im Untersuchungsobjekt 5 gleichtaktig und gleichphasig langwellige Fluoreszenz an. Das optische Langpaßfilter 6, welches sich zwischen dem Untersuchungsobjekt 5 und der Photodiode 7 befindet, läßt die längerwellige Fluoreszenz passieren, während es das kürzerwellige

Anregungslicht absorbiert. Auch der längerwellige Anteil der bei gleichzeitiger Belichtung mit einer Starklichtquelle 19 bzw. bei unkontrolliertem Fremdlichteinfall auftretenden Streu-, Reflektions- und Fluoreszenz-Strahlung erreicht über das optische Langpaßfilter 6 die Photodiode 7 und erzeugt dort ein Meßsignal, welches sich dem Impulsfluoreszenzsignal überlagert. Das Gesamtmeßsignal wird dem Vorverstärker 8 zugeführt, der als schneller Impulsverstärker ausgelegt ist und dadurch eine weitgehende Trennung von getaktetem Impulsfluoreszenzsignal und ungetaktetem Stark- bzw. Fremdlichtsignal bewirkt. Bei Anwendung von Starklichtquellen mit steilen Schaltflanken ist die Trennung von Impulssignal und dem schnell veränderlichen Störsignal jedoch noch nicht ausreichend. Eine vollständige Trennung erfolgt erst im anschließenden selektiven Ausschnittsverstärker 11. Für die Funktion des Verstärkersystems ist entscheidend, daß sowohl der LED Impulstreiber 2, als auch der selektive Ausschnittsverstärker 11, als auch der Ein/Ausschalter 18a, 18b der Starklichtquelle 19, sowie der Austastschalter S3 im Vorverstärker 8 (Fig. 2a) über den Dezimalzähler 12 und die logischen Schaltelemente in einer Synchronisierungseinheit 10 in zeitlich definierter Weise funktionell mit dem Taktgenerator 9 gekoppelt sind.

Gemäß Fig. 2a und 2b steuert der Taktgenerator 9 über einen Dezimalzähler 12 zum einen den LED Impulstreiber 2 und zum anderen den selektiven Ausschnittsverstärker 11 an. Ferner werden von demselben Dezimalzähler 12 an seinem Ausgang "5" Synchronimpulse zur Ansteuerung der Synchronisierungseinheit 10 geliefert. Die Fluoreszenzimpulse werden von der Photodiode 7 empfangen, im Vorverstärker 8 verarbeitet und das Impulssignal dem selektiven Ausschnittsverstärker 11 zugeführt. Im Vorverstärker 8 wird durch das RC-Hochpaßfilter R1, C1 das Impulssignal von überlagernden Störsignalen getrennt. Der Ausschalter S3 dient der kurzfristigen Kurzschließung des Verstärkereingangs zur Verhinderung einer Übersättigung des Verstärkersystems bei Anwendung sättigender Lichtblitze. Im selektiven Ausschnittsverstärker 11, der dem Vorverstärker 8

nachgeschaltet ist, steuern zwei vom Taktgenerator 9 über den Dezimalzähler 12 an seinem Ausgang "0" erhaltene Schaltimpulse nach geeigneter Verzögerung in den Elementen V1 und V2 zwei Schalter S1 und S2 an, zum Zwecke der zeitlich selektiven Übernahme des vom Vorverstärker 8 kommenden Fluoreszenzimpulssignals.

Die relative zeitliche Lage des LED Impulslichtes 3, des vom Vorverstärker 8 kommenden Fluoreszenzimpulssignals 13 und der von den Verzögerungsgliedern V1 und V2 kommenden Schaltimpulse ist in Fig.3 dargestellt.

Den Schaltern S1 und S2 nachgeschaltet sind zwei Halteglieder C2 und C3, die bei jedem Meßimpuls die Ausschnittssignalwerte 15 und 16 (Fig.3) übernehmen und bis zum nächsten Meßimpuls an den beiden Eingängen eines nachgeschalteten Instrumentenverstärkers 14 speichern. Am Ausgang des Instrumentenverstärkers 14 liegt das Meßsignal jeweils als Differenzsignal zwischen den Extremwerten 15 und 16 des Lade- und Entladeimpulses vor, welches ein Maß für die jeweilige Fluoreszenzausbeute des Untersuchungsobjektes ist.

Der Taktgenerator 9 wird mittels des Schalters 21 durch einen Impuls von der Synchronisierungseinrichtung 10 von einer niedrigen auf eine hohe Frequenz und umgekehrt geschaltet. Eine Umschaltung des Taktgenerators 9 von niedriger auf hohe Frequenz dient zur Erhöhung des Signal/Rausch Verhältnisses. Die damit verbundene Erhöhung der Meßlichtintensität ist bei gleichzeitiger Einstrahlung von Starklicht in ihrer Wirkung zu vernachlässigen.

Damit die beim Ein- und Ausschalten von Starklichtquellen mit steilen Schaltflanken auftretenden steilen Signalflanken nicht mit den Fluoreszenzimpulssignalen 13 zeitlich zusammenfallen können, werden vom Dezimalzähler 12 am Ausgang "5" erzeugte Synchronimpulse zum Ein- und Ausschalten der Starklichtquelle 19 genutzt, wobei eine Logikschaltung L1 dafür sorgt, daß die Synchronimpulse nur dann einen

Einschalt-Triggerimpuls auslösen, wenn der Starttaster 17 betätigt ist und wobei eine zweite Logikschaltung L2 in Verbindung mit einem digital-einstellbaren Verzögerungsglied 20 einen Synchronimpuls zur Auslösung des Ausschalt-Triggerimpulses selektioniert.

Am Ausgang des Instrumentenverstärkers 14 in der Steuer- und Regelungseinrichtung 11 (Fig. 2a) befindet sich eine wahlweise zuschaltbare Zusatzeinrichtung 23 zur automatischen Nullwertkompensation des Meßsignals. Die Zusatzeinrichtung gemäß Fig. 4 besteht aus einem Taster 24 über den bei Betätigung ein Binärzähler 25 angesteuert wird. Diesem ist eine Widerstandskette 26 nachgeschaltet, welche an ihrem Ausgang variable Spannungen zur Kompensation des vorliegenden Meßsignals erzeugt. Diese Spannungen werden in einem Komparator 27 jeweils mit den gegebenen Meßsignal-Spannungen verglichen und das Vergleichsergebnis veranlaßt den Binärzähler zu einer Aufwärts- oder zu einer Abwärtszählung und der damit verbundenen Korrektur der Kompensationsspannung am Ausgang der Widerstandskette 26. Dieser Zählvorgang läuft solange ab, bis die Nullwertkompensation erreicht ist. Der Kompensationswert bleibt erhalten, sobald der Taster 24 sich wieder öffnet. Die Kompensationsspannung und das Meßsignal werden am Differenzverstärker 28 voneinander abgezogen und das Differenzsignal gelangt zur Auswertung.

In Fig. 5 ist eine Ausführungsform des Meßkopfes M mit zweiarmiger Fiberoptik 30,31 dargestellt. Im Abschirmgehäuse 29 fällt das Licht einer lichtemittierenden Diode (LED) 1 durch ein optisches Kurzpaßfilter 4 auf den einen Arm 30 des Lichtfaserbündels und bestrahlt ein Untersuchungsobjekt 5. Ferner enthält das Abschirmgehäuse 29 eine Photodiode 7 mit einem optischen Langpaßfilter 6, die durch den zweiten Arm 31 des Lichtfaserbündels das Fluoreszenzimpulssignal empfängt. Die Fasern der beiden Arme 30,31 des Lichtfaserbündels sind an einem gemeinsamen Ende 32 zusammengefaßt und durchmischt.

In der Fig. 6 ist eine weitere Ausführungsmöglichkeit des Meßkopfes M dargestellt. Es zeigen 1 eine LED, 4 ein Kurzpaßfilter, 35 eine Photodiode mit zentraler Öffnung 33, sowie 36 ein Langpaßfilter mit zentraler Öffnung 34 in einem Abschirmgehäuse 29, durch dessen Öffnung 37 die Fluoreszenz des Untersuchungsobjektes 5 angeregt wird. Die Anordnung der Photodiode 35 und des Langpaßfilters 36 mit jeweils zentralen Öffnungen ermöglicht die Bestrahlung des Teiles 5 aus kurzer Entfernung, mit der damit verbundenen optimalen Ausnutzung der gegebenen LED Lichtstärke und gleichzeitiger effektiver Sammlung des Fluoreszenzlichtes.

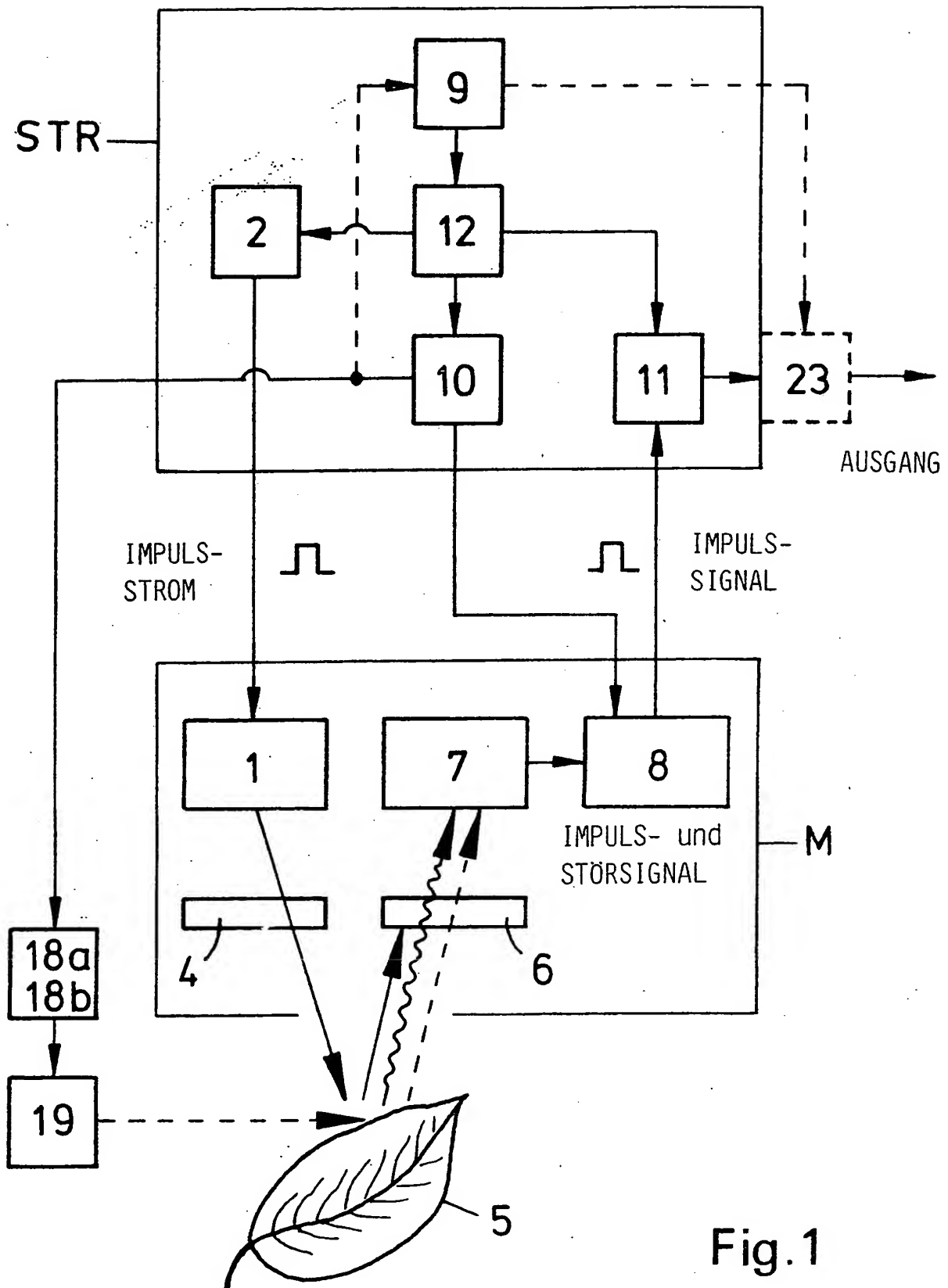
Fig. 7 zeigt eine Ausführungsform des Meßkopfes M analog der Fig. 6 jedoch mit einem an die Öffnung 37 angekoppelten, einarmigen Lichtfaserbündel 38, welches an das Teil 5 ohne Abstand angedrückt ist. Aufgrund dieser Anordnung sind Fluoreszenzmessungen an schwer zugänglichen Untersuchungsobjekten ermöglicht, bei gleichzeitiger optimaler Ausnutzung von gegebener LED Lichtstärke und effektiver Sammlung des Fluoreszenzlichtes.

In der Fig. 8 ist der Meßkopf M analog dem der Fig. 6 dargestellt, jedoch befindet sich zwischen der Öffnung 34 und der Öffnung 37 eine zweite LED 39 mit transparentem Kunstharzkörper. Die zweite LED 39 kann in dieser Anordnung von der LED 1 durchstrahlt werden. Außerdem liefert die zweite LED 39 ungefiltertes Starklicht zur Belichtung des Untersuchungsobjektes 5 aus nächster Nähe. Gleichzeitig ist bei dieser Anordnung ein ausreichender Einfall von Fluoreszenzimpulslicht auf die Photodiode 35 gewährleistet.

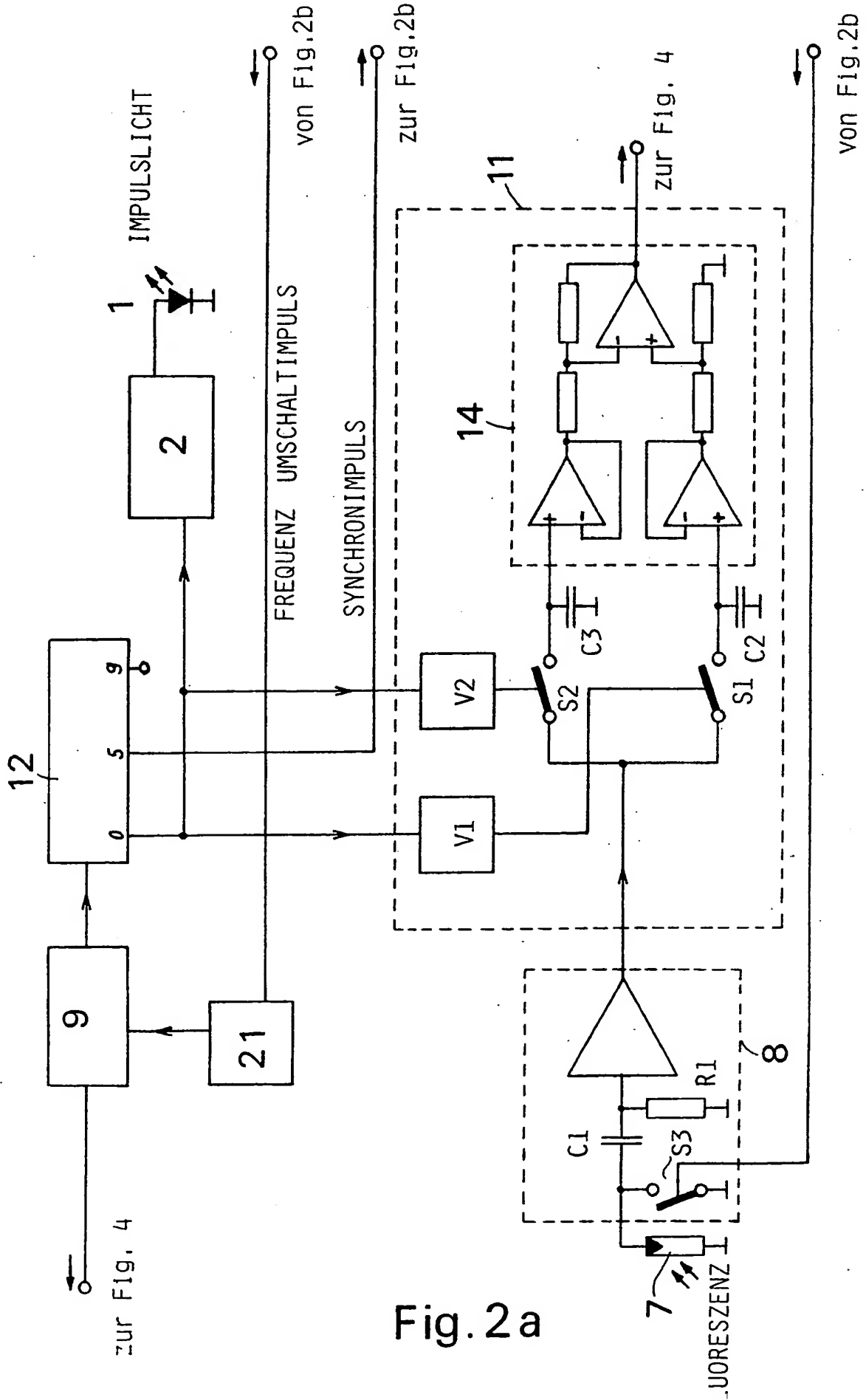
Fig. 9 zeigt eine mit dem erfindungsgemäßen Fluorometer gemessene Chlorophyllfluoreszenz-Induktionskurve von einem Spinat-Blatt beim Übergang vom Dunkel- in den Lichtzustand. Im vorliegenden Meßbeispiel verhalten sich die Intensitäten von Meßlicht/Starklicht/Sättigungsblitzen wie $1/10^5/10^6$. Das Starklicht bewirkt Veränderungen der Fluoreszenzausbeute in Verbindung mit dem Ablauf der Photosynthese im Blatt; die Sättigungsblitze dienen zur Ermittlung der maximalen Fluoreszenzausbeute.

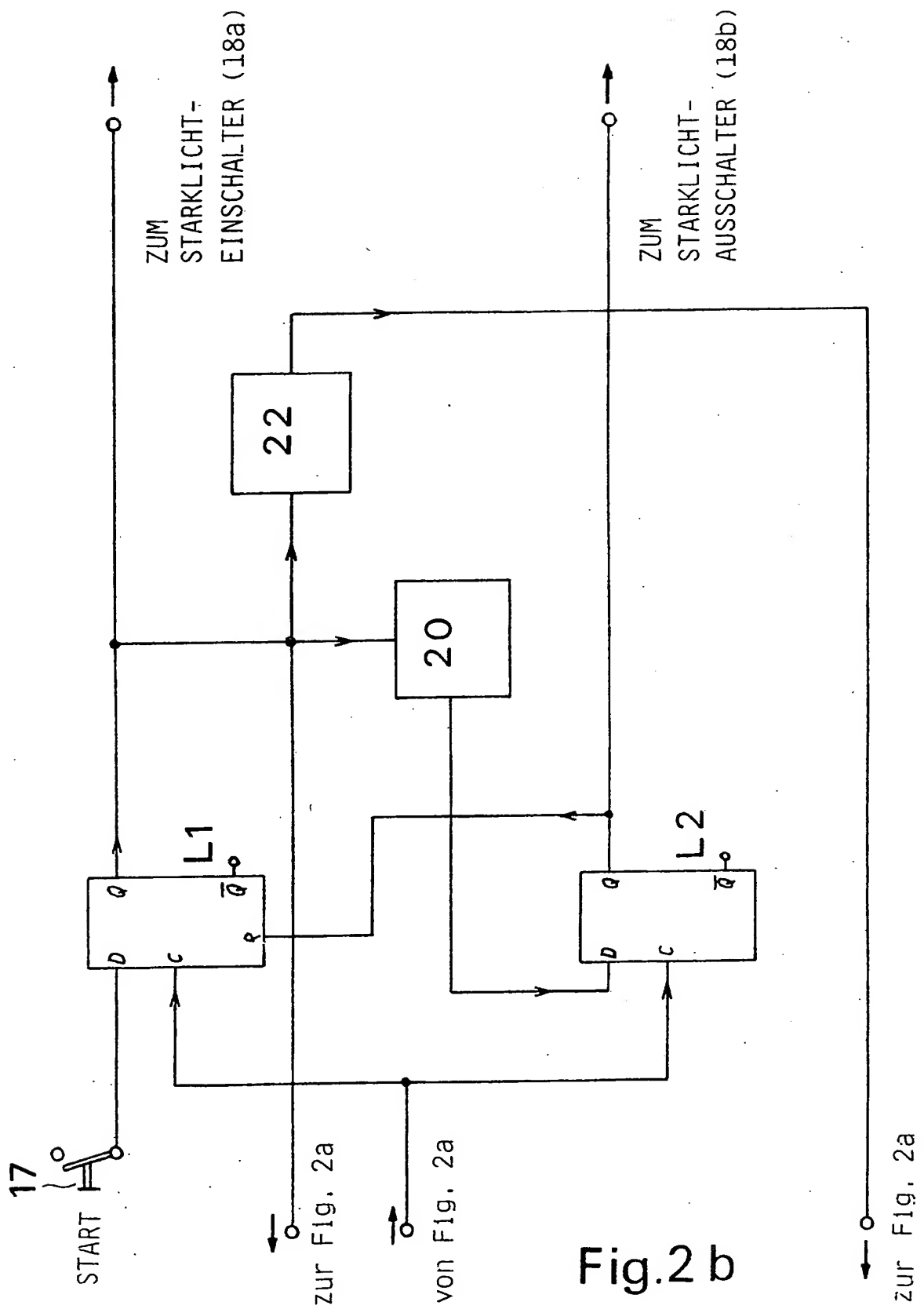
-13-
- Leerseite -

BEST AVAILABLE COPY



ORIGINAL INSPECTED





ORIGINAL INSPECTED

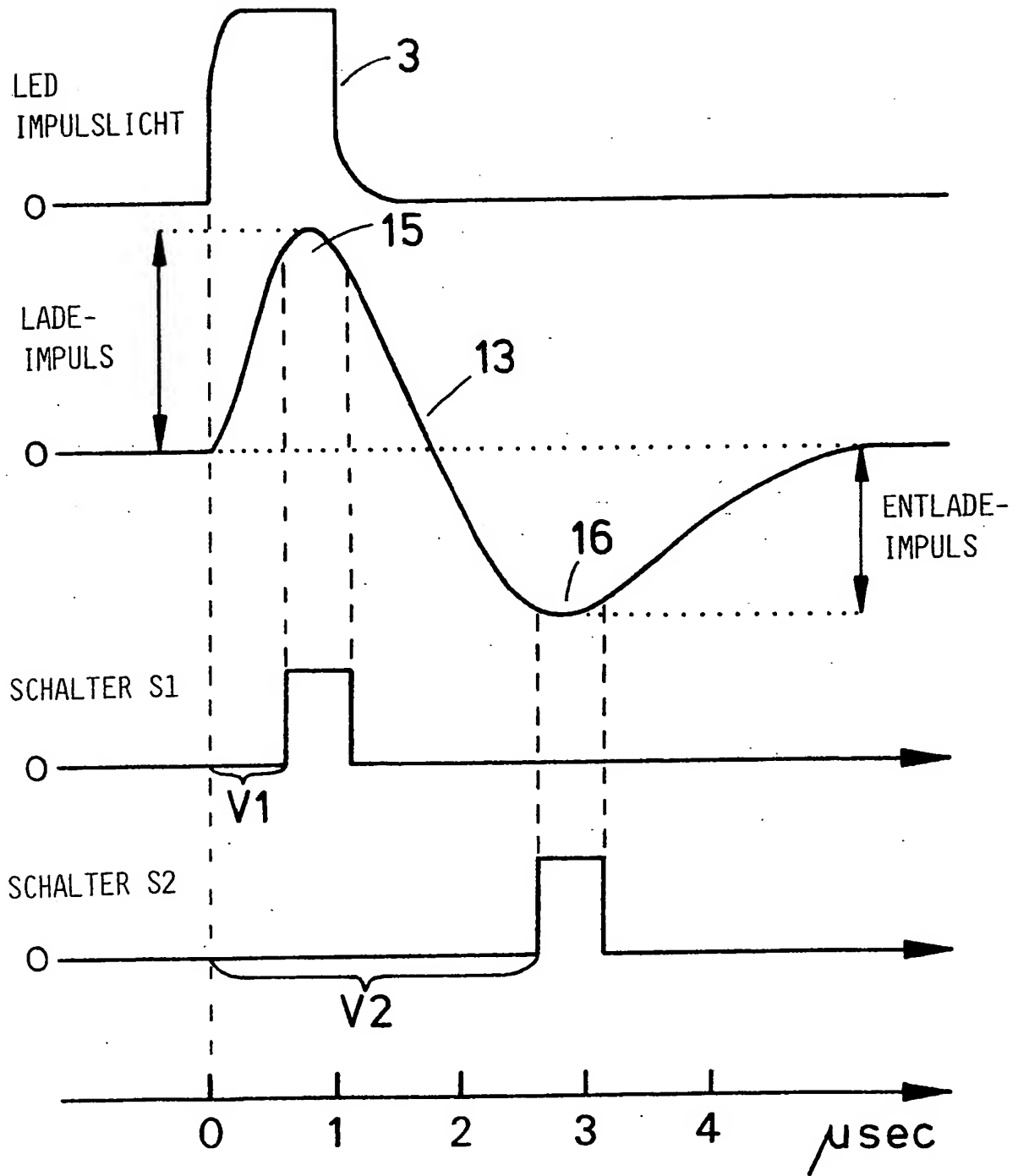


Fig. 3

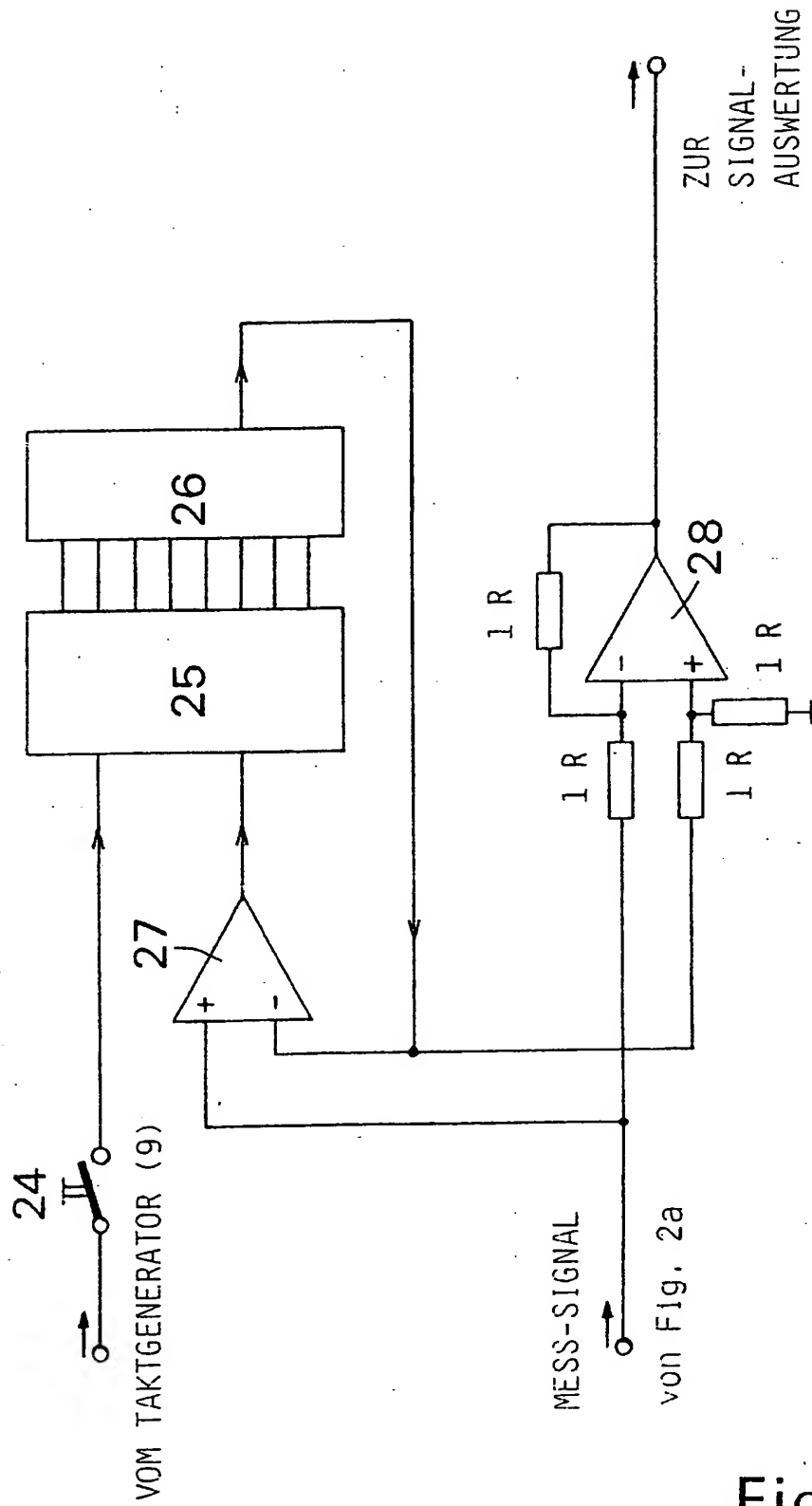


Fig. 4

ORIGINAL INSPECTED

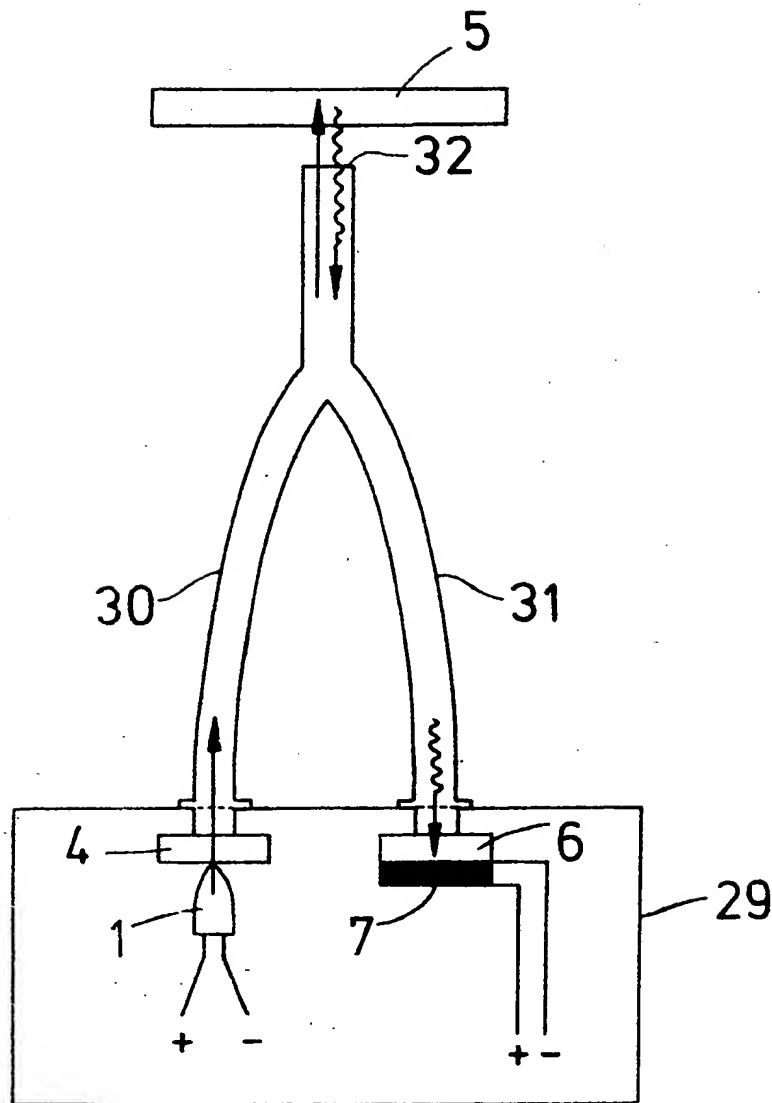


Fig. 5

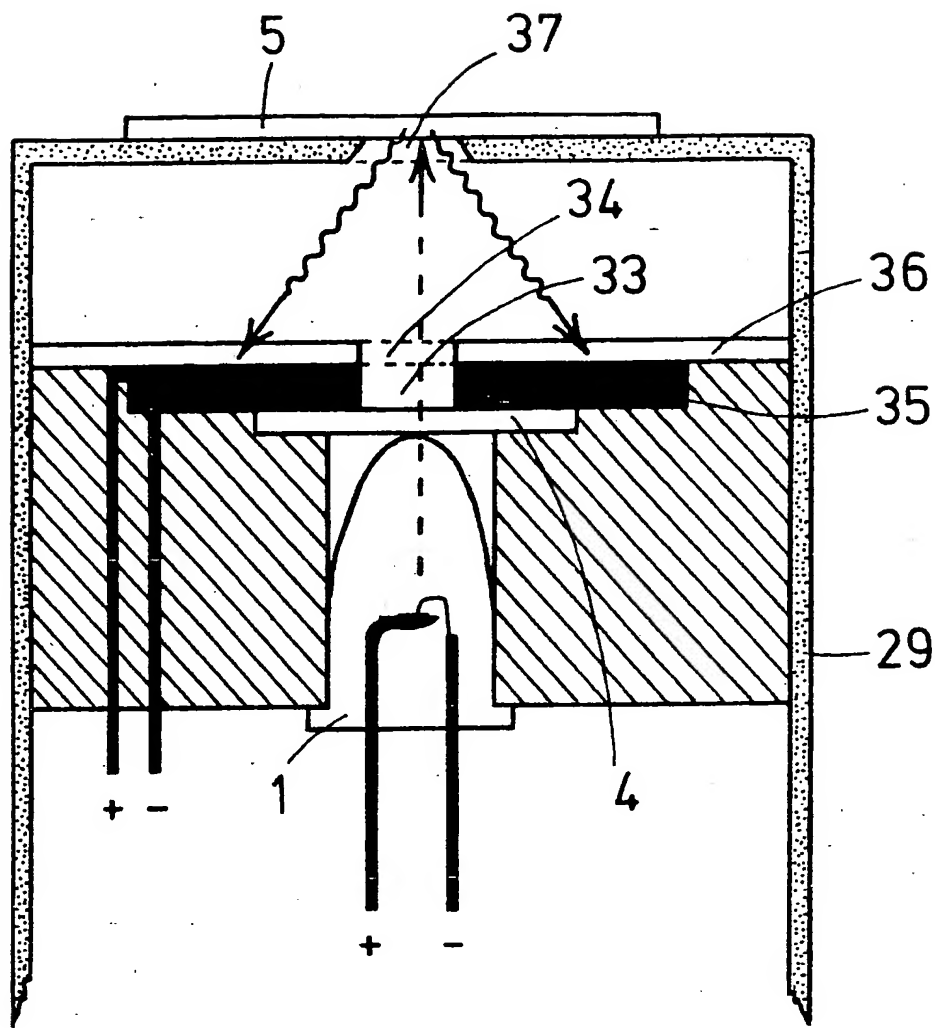


Fig. 6

ORIGINAL INSPECTED

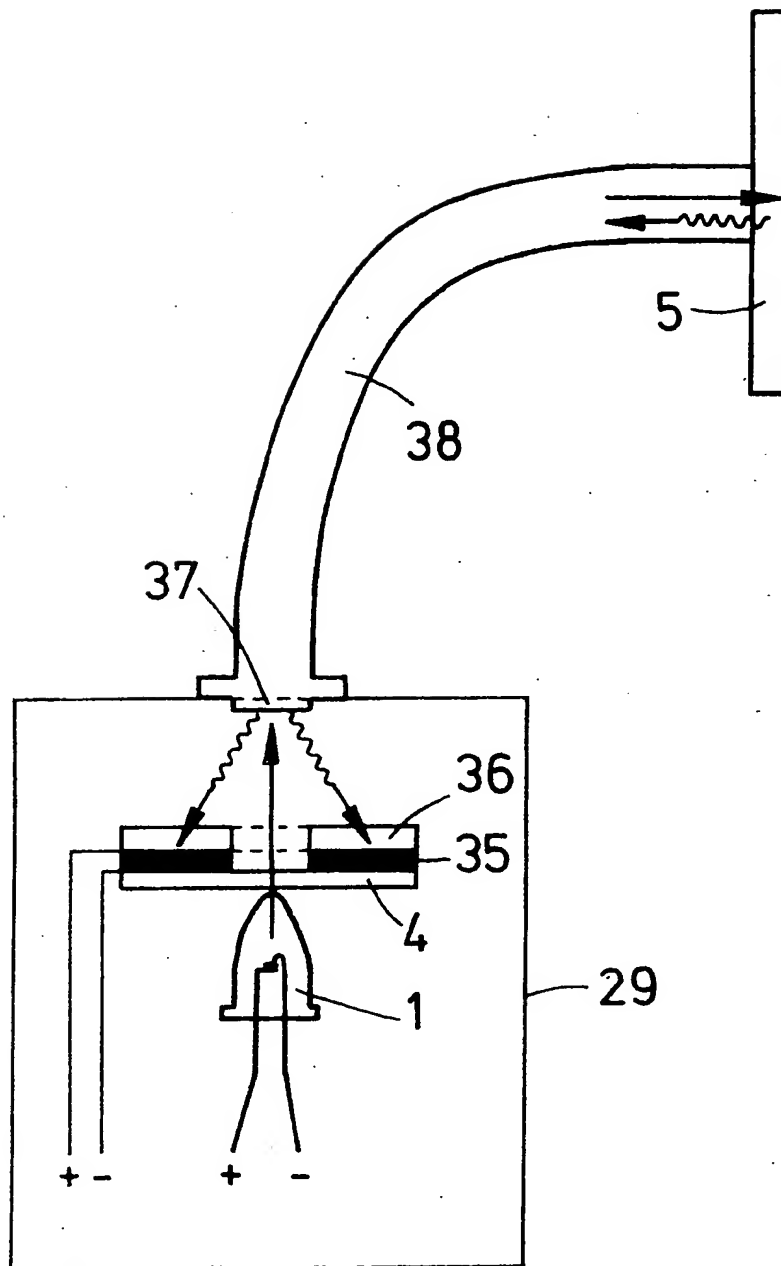


Fig.7

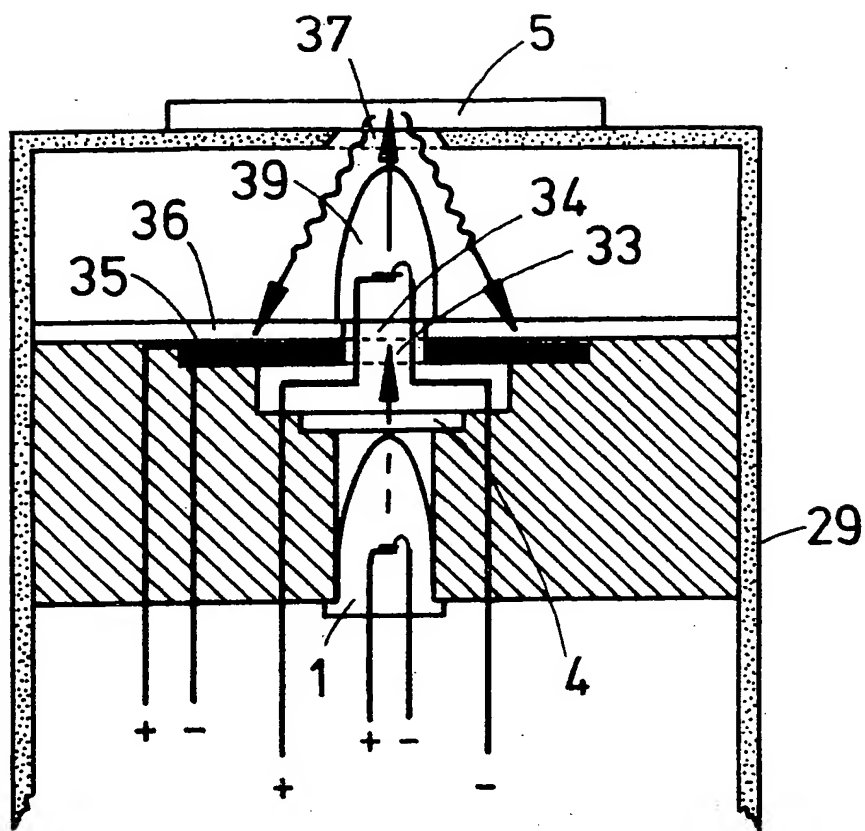


Fig. 8

ORIGINAL INSPECTED

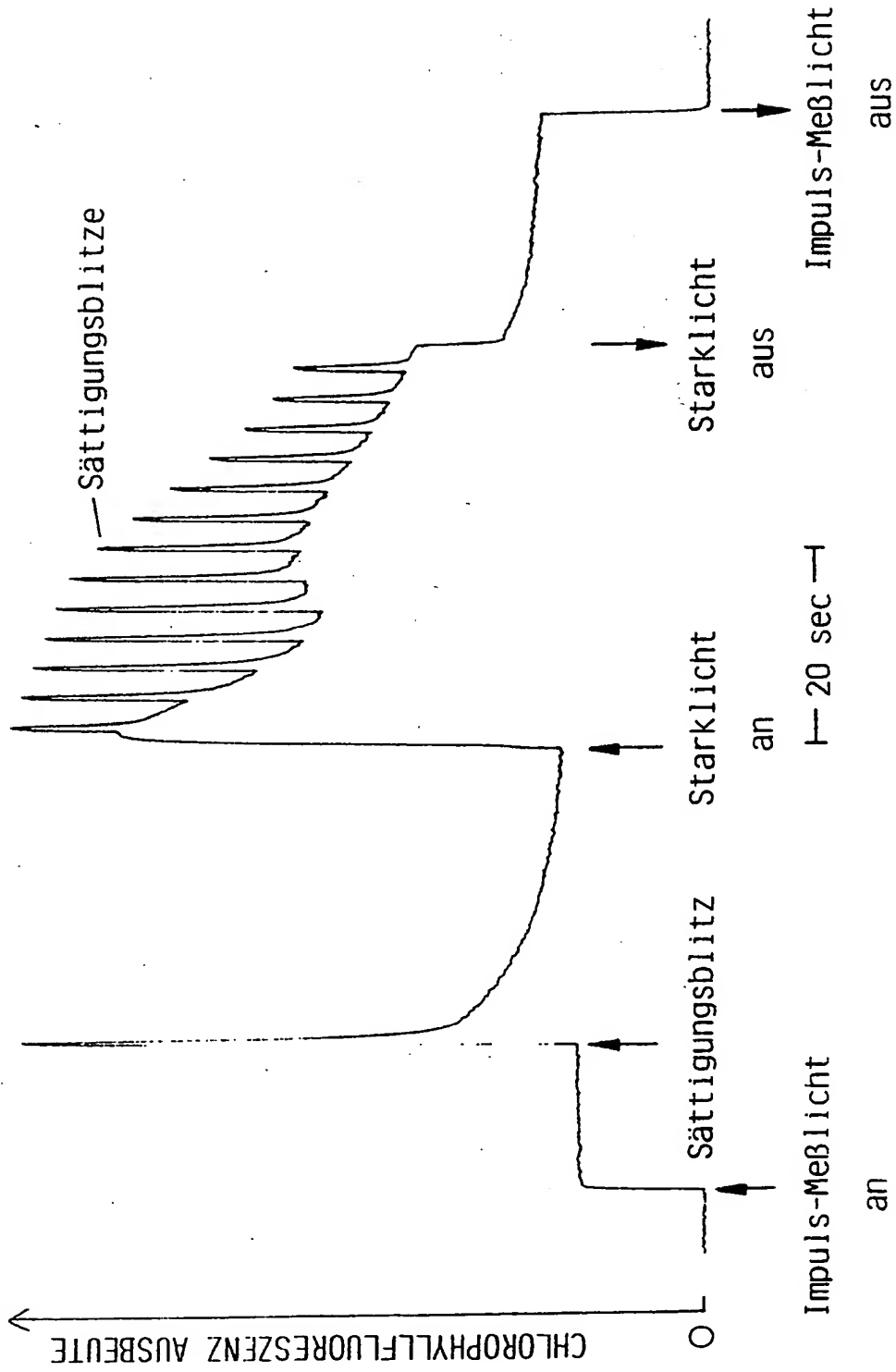


Fig. 9